

CRISPR : le Nobel, enfin...

Bertrand Jordan

► Après Marie Curie, en 1903 et 1911, Irène Joliot-Curie en 1935, Françoise Barré-Sinoussi en 2008, Esther Duflo (franco-américaine) en 2019, Emmanuelle Charpentier est la cinquième française à décrocher un Prix Nobel (le Nobel de chimie 2020) qu'elle partage avec l'américaine Jennifer Anne Doudna. C'est la première fois qu'un prix Nobel scientifique est décerné conjointement à deux femmes.

Emmanuelle Charpentier (née le 11 décembre 1968 à Juvisy-sur-Orge, France), obtient un doctorat à l'Institut Pasteur, après un master à l'université Pierre et Marie Curie (UPMC, maintenant Sorbonne Université, Paris). Microbiologiste, généticienne et biochimiste, elle poursuit un cursus international au sein d'institutions américaines avant un retour en Europe (Suède et Allemagne). Elle est aujourd'hui professeure à l'Institut Max Planck de Science des Pathogènes à Berlin qu'elle a créé et qu'elle dirige.

Jennifer Anne Doudna (née le 19 février 1964 à Washington) est une professeure américaine de biochimie et de biologie moléculaire à l'université de Californie à Berkeley. Elle est titulaire d'une licence en chimie obtenue au Pomona College en 1985. Sa thèse de doctorat en biochimie, centrée sur l'étude des ribozymes, a été menée à l'université Harvard. Par la suite, elle a effectué un postdoctorat à l'université du Colorado à Boulder. ◀



UMR 7268 ADÉS, Aix-Marseille,
Université/EFS/CNRS ;
CoReBio PACA, case 901,
Parc scientifique de Luminy,
13288 Marseille Cedex 09,
France.
brjordan@orange.fr

Fait remarquable, le prix Nobel de Chimie 2020 est 100 % féminin et récompense deux chercheuses en pleine activité, Jennifer Doudna et Emmanuelle Charpentier. Pour notre nation, c'est à la fois un honneur et une critique : la Française, Emmanuelle Charpentier, a fait toute sa carrière à l'étranger, et n'avait visiblement pas trouvé sa place dans notre système de recherche publique malgré une thèse réalisée à l'Institut Pasteur et son désir initial d'y revenir après un stage postdoctoral aux États-Unis [2]. Le système CRISPR, à l'origine curiosité de microbiologiste, est aujourd'hui un extraordinaire outil permettant de modifier à volonté l'ADN dans des cellules, des tissus ou des embryons, avec une grande souplesse et une remarquable facilité d'emploi. Il connaît de multiples applications, depuis l'obtention très rapide (quelques semaines !) de modèles animaux qui nécessitaient précédemment au moins un an de travail, jusqu'au criblage fonctionnel de milliers de gènes - sans oublier une regrettable tentative de modification génétique d'embryons humains [3] (→).

(→) Voir la
Chronique génomique
de B. Jordan, m/s
n° 3, mars 2019,
page 266

Un petit historique

L'histoire de CRISPR commence avec une archée halophile¹ (*Haloferax mediterranei*) isolée dans des marais près d'Alicante, en Espagne. La découverte en 1993 d'une structure particulière dans son ADN fut le fait d'un chercheur espagnol, Francisco Mojica, qui devait quelques années plus tard lui donner le nom de *Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats* ou CRISPR [4]. Il allait rapidement montrer que ce type de structure existait chez de nombreux procaryotes, puis

Ce prix Nobel, on l'attendait depuis plusieurs années, depuis que, à partir de 2012, le système CRISPR s'est répandu comme une traînée de poudre à travers de multiples laboratoires et est devenu une approche aussi incontournable que la PCR (*polymerase chain reaction*) et une avancée comparable à celle de la découverte de la structure de l'ADN en 1953 [1] (→).

(→) Voir la Nouvelle
de H. Gilgenkrantz,
m/s n° 12,
décembre 2014,
page 1066

découvrir qu'elle faisait partie d'un système de défense des bactéries contre leur infection par les bactériophages (les virus spécifiques des bactéries). À l'université Paris-Sud, le laboratoire de Gilles Vergnaud arrivait à la même conclusion, dans un autre système bactérien. Mojica a publié ses résultats en 2005 [5], non sans mal (après quatre ou cinq refus successifs) : le sujet n'était pas à la mode, et les auteurs n'appartenaient pas à de prestigieux laboratoires anglo-saxons.

Pendant plusieurs années, les travaux sur le système CRISPR allaient rester assez confidentiels, un sujet de niche n'intéressant qu'un petit nombre de spécialistes. Mais à partir de 2006, une brillante biologiste moléculaire, Jennifer Doudna (professeur à l'université de Berkeley en Californie, États-Unis) commençait à s'y intéresser, dans le but de découvrir comment fonctionne ce système de défense. Simultanément, Emmanuelle Charpentier, alors à la tête d'une petite équipe à l'université de Vienne, en Autriche, abordait l'étude de ce système, en collaboration avec Jörg Vogel (*Max Planck Institute for Infection Biology*, Berlin, Allemagne) via l'étude des petits ARN présents dans la bactérie *Streptococcus pyogenes*. De fil en aiguille, ils démontrèrent que le système CRISPR de cette bactérie est constitué d'une protéine, Cas9, et de deux ARN – l'ARN tracr (*tracrRNA*) et l'ARN CRISPR (*crRNA*). Les résultats suggéraient que l'ARN CRISPR pouvait guider la protéine Cas9 vers l'ADN viral infectieux à cliver. Emmanuelle Charpentier qui, dans un séjour post-doctoral précédent, avait très laborieusement construit des souris génétiquement modifiées, envisagea dès lors que le système CRISPR pourrait fournir un fabuleux outil de modification de l'ADN... Il fallait déjà apporter un début de preuve, ce qui fut entamé fin 2009 et aboutit, après un travail acharné, à une publication début 2011 dans la revue *Nature* [6]. Emmanuelle Charpentier avait alors obtenu un poste au Centre de microbiologie d'Umea (en Suède), avec les moyens de monter une petite équipe. Entre temps, elle avait présenté ses résultats à une réunion CRISPR en 2010 puis, à l'occasion d'un colloque de microbiologie à Porto Rico, en mai 2011. C'est là qu'elle rencontra Jennifer Doudna et que les deux chercheuses décidèrent immédiatement de collaborer.

La collaboration allait s'avérer fructueuse puisqu'en peu de temps les deux équipes purent établir le mécanisme, maintenant bien connu, de la coupure d'ADN par CRISPR : formation d'un complexe entre la nucléase Cas9 et les deux ARN², et reconnaissance de la séquence à cliver par appariement entre une partie de cet ARN et l'ADN cible. Elles faisaient ainsi la démonstration que ce système simple, robuste et facilement programmable via la séquence de l'ARN, pouvait cliver spécifiquement une séquence donnée d'ADN en effectuant une coupure double brin. La revue *Science* publia très rapidement (en août 2012) ces résultats dont l'importance était dès lors évidente [7]. La démonstration avait été faite pour des réactions *in vitro* ou dans des bactéries. Restait, pour réaliser toute l'ampleur de cette avancée, à adapter le système, afin qu'il fonctionne dans des cellules eucaryotes et particulièrement de mammifères : ce fut chose faite dès 2013, avec les résultats publiés simultanément par l'équipe de



Figure 1. Les salines de Santa Pola, près d'Alicante, là où tout a commencé avec Francisco Mojica [4].

George Church [8] et celle de Feng Zhang [9]. Tous les éléments d'un extraordinaire outil d'« édition » de l'ADN étaient maintenant réunis : après le clonage par recombinaison *in vitro*, le séquençage et la synthèse, la modification ciblée de l'ADN devenait possible et même facile, et allait révolutionner de nombreux domaines de recherche.

Les trajectoires personnelles

Les deux lauréates de ce prix Nobel ont suivi des trajectoires bien différentes. Jennifer Doudna, née en 1964, est une chercheuse californienne dont la brillante carrière a été conforme aux canons de son milieu. Fille d'un couple d'intellectuels, elle devorait à douze ans « *La double hélice* » de James Watson, cadeau de son père. Étudiante à la *Harvard Medical School*, elle obtient un doctorat portant sur l'ARN catalytique, travaille ensuite sur les ribozymes³ et, à 30 ans, devient *Assistant Professor* à l'université de Yale. Nommée *Full Professor* en 2000 (à 36 ans...), elle rejoint ensuite l'Université de Californie à Berkeley et s'oriente vers l'exploration des petits ARN et l'étude de leur rôle dans la régulation des gènes. Cela l'amène, à partir de 2006, à s'intéresser au système CRISPR, et à la rencontre avec Emmanuelle Charpentier en 2011. Tout au long de son parcours, Jennifer Doudna a produit de très nombreuses publications (plus de 300), souvent – et dès le début – dans les toutes meilleures revues et comme auteur sénior. En somme, le parcours typique d'une excellente chercheuse au sein de l'élite du système scientifique nord-américain.

² Dans la version actuelle du système, le deuxième ARN, initialement appelé ARN CRISPR, est rattaché au premier, et l'ensemble est dénommé ARNguide (*guide RNA*).

³ ARN présentant une activité catalytique, comme une enzyme.



L'histoire d'Emmanuelle Charpentier est bien différente [2]. Née en 1968 dans une famille modeste en région parisienne, tentée très tôt par la médecine, elle effectue une maîtrise de sciences de la vie à l'université Pierre et Marie Curie, puis un doctorat à l'Institut Pasteur, portant sur le transfert entre bactéries de gènes de résistance aux antibiotiques. Souhaitant à terme animer un groupe à Pasteur, elle part effectuer un post-doc aux États-Unis à l'Université Rockefeller où elle travaille sur les éléments génétiques mobiles chez *Streptococcus pneumoniae*, puis (toujours à New York) sur la régulation de la croissance du pelage chez la souris – à l'aide de souris génétiquement modifiées, dont l'obtention s'avère particulièrement difficile⁴. Elle revient ensuite en Europe en cherchant à établir un groupe, ce qu'elle fait en 2002 à l'université de Vienne en Autriche, mais dans des conditions assez précaires. Elle continue à étudier la régulation de gènes par des petits ARN chez diverses bactéries, notamment *Streptococcus pyogenes*. C'est cela qui l'amène, avec Jörg Vogel, à s'intéresser au système CRISPR chez cette bactérie et la met sur la voie qui mènera à la compréhension de ce système, à la rencontre avec Jennifer Doudna et à la gloire scientifique. Avant la parution en 2011 de l'article princeps sur le système CRISPR [6], Emmanuelle Charpentier avait publié une trentaine d'articles⁵ dont deux dans des revues de premier plan (*Nature* en 1999, *Science* en 2009), mais pas en auteur sénior. En dépit de son énergie, de son intelligence et de son acharnement, attestés par tous ceux qui l'ont connue [2], son dossier, à un peu plus de quarante ans, n'aurait pas fait forte impression dans une commission de recrutement Inserm ou CNRS, et tant la liste de ses implantations (elle avait alors quitté Vienne pour la Suède, au Centre de recherches microbiennes d'Umeå) que la variété apparente des sujets abordés auraient joué en sa défaveur... Cela nous dit quelque chose sur l'inadaptation de nos structures trop rigides aux réalités de la recherche actuelle...

Fort heureusement, ces deux personnalités très différentes ont su se trouver pour mener avec enthousiasme un travail qui a abouti en quelques années à une avancée révolutionnaire en biologie et à des possibilités largement accrues (pour le meilleur et pour le pire) de manipulation du Vivant.

Les oubliés du Nobel

Le prix Nobel récompense... mais il exclut aussi, comme dans le cas du regretté Dominique Stéhelin, découvreur à la paillasse des oncogènes cellulaires, en 1976, mais exclu du prix décerné en 1989 à Michael Bishop et Harold Varmus. Il est clair que Jennifer Doudna et Emmanuelle Charpentier ont joué un rôle majeur et méritaient cette récompense, mais la règle du jeu autorise jusqu'à trois lauréats, et les candidats crédibles pour cette troisième place sur le podium ne manquaient pas [10]. On pourrait penser à Francisco Mojica, qui a découvert [4] puis baptisé le système CRISPR et a fourni au fil des ans de nombreuses contributions à son sujet. Ou alors à Jörg Vogel, qui a permis les premiers pas d'Emmanuelle Charpentier dans ce domaine [6]. Un autre outsider dont nous n'avons pas parlé jusqu'ici est le groupe lithuanien de Virginijus Siknys qui travaillait depuis 2007 à élucider le système CRISPR et, dans un article soumis à la revue *Cell* en 2012, démontrait le mécanisme de ciblage par l'ARN et la coupure par la nucléase Cas9 – « une nucléase programmable par la séquence d'ARN associée »⁶ selon la formulation des auteurs. Cet article fut refusé (sans examen) par la revue. Les auteurs le soumièrent alors aux *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. Il était encore en cours d'évaluation quand parut au mois d'août la publication des groupes de Doudna et de Charpentier [7], qui arrivait aux mêmes conclusions. L'article parut dans *PNAS* au mois de septembre [11], mais il était trop tard... Terminons, en citant un « troisième homme » que beaucoup s'attendaient à voir figurer au palmarès du prix : le responsable de l'adaptation du système CRISPR aux cellules de mammifères, ce qui apporte la pierre manquante à l'édifice et augmente considérablement le champ d'application de la technique. On pense généralement à Feng Zhang [9], mais ce pourrait aussi bien être George Church [8], puisque les deux articles en question ont été publiés simultanément. En tous cas, ce volet du système CRISPR est essentiel (il fait d'ailleurs l'objet d'une épineuse bataille de brevets entre Jennifer Doudna et Feng Zhang) et aurait justifié une place sur le podium. Le jury du Nobel a peut-être souhaité un « ticket » 100 % féminin, ce qui est dans l'air du temps ? Ou a-t-il voulu éviter d'avoir à choisir entre Zhang et Church⁷ ? Quoi qu'il en soit, les deux chercheuses choisies méritent indubitablement cette distinction.

Une découverte inattendue mais inévitable ?

La découverte du système CRISPR a constitué pour beaucoup de biologistes une divine surprise, ouvrant d'un coup la possibilité d'études jusque-là impossibles ou extrêmement laborieuses. CRISPR s'est, de plus, avéré particulièrement efficace et robuste, facile à mettre en place dans de très nombreux laboratoires. Mais, comme le montre la mésaventure de l'équipe de Siknys [11], il était en fait dans l'air du temps : la perspective d'une coupure spécifique et facilement programmable de l'ADN animait le travail de plusieurs laboratoires.

⁴ La construction de souris *knock-out* ou *knock-in* était à l'époque très longue et délicate.

⁵ Le décompte est un peu difficile en raison de la présence d'homonymes. J'ai repéré 30 articles de 1993 à 2010.

⁶ *Universal programmable RNA-guided DNA endonuclease.*

⁷ D'autant plus que Zhang était précédemment en post-doctorat dans l'équipe de Church.

Cela ne diminue en rien le mérite de Doudna et de Charpentier, mais souligne que les découvertes sont de plus en plus le produit d'un écosystème et que la circulation des informations, des idées et des individus joue un rôle fondamental. Le système CRISPR a connu depuis de nombreuses évolutions l'adaptant aux usages les plus divers. Il n'a pas été remplacé, malgré l'espoir fugace fondé sur une protéine portant le joli nom d'Argonaute, espoir non confirmé et pointant, au mieux, des erreurs expérimentales [12] (→).

(→) Voir la Chronique génomique de B. Jordan, m/s n° 2, février 2017, page 193

Il va sans aucun doute continuer à jouer un rôle central dans une génomique qui devient de plus en plus fonctionnelle et dans laquelle les modifications précises de l'ADN joueront un rôle essentiel – sans oublier de nouvelles perspectives en thérapie génique somatique [13] (→) et, peut-être un jour, germinale. ♦

(→) Voir la Chronique génomique de B. Jordan, m/s n° 11, novembre 2016, page 1035

SUMMARY

CRISPR Nobel, at last...

The 2020 Nobel Prize in chemistry rewards two brilliant scientists who have followed quite different career paths but have collaborated very successfully. Of course, the history of the CRISPR system is complex and involves many other individuals, but their contribution has been essential. It is difficult to overstate the importance of this system for the functional interpretation of massive genome data as well as for (sometimes problematic) clinical applications. ♦

RÉFÉRENCES

1. Gilgenkrantz H. La révolution des CRISPR est en marche. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 1066-9.
2. Abbott A. A CRISPR vision. *Nature* 2016 ; 532 : 432-4.
3. Jordan B. Bébés CRISPR : anatomie d'une transgression. *Med Sci (Paris)* 2019 ; 35 : 266-9.
4. Mojica FJ, Juez G, Rodríguez-Valera F. Transcription at different salinities of *Haloflex mediterranei* sequences adjacent to partially modified PstI sites. *Mol Microbiol* 1993 ; 9 : 613-21.
5. Mojica FJ, Díez-Villaseñor C, García-Martínez J, Soria EJ. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *Mol Evol* 2005 ; 60 : 174-82.
6. Deltcheva E, Chylinski K, Sharma CM, et al. CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III. *Nature* 2011 ; 471 : 602-7.
7. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 2012 ; 337 : 816-21.
8. Mali P, Yang L, Esvelt KM, et al. RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science* 2013 ; 339 : 823-6.
9. Cong L, Ran FA, Cox D, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science* 2013 ; 339 : 819-23.
10. Ledford H. The unsung heroes of CRISPR. *Nature* 2016 ; 535 : 142-4.
11. Gasiunas G, Barrangou R, Horvath P, Siksnys V. Cas9-crRNA ribonucleoprotein complex mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012 ; 109 : E2579-86.
12. Jordan, B. Les Argonautes ont-ils perdu le Nord ? *Med Sci (Paris)* 2017 ; 33 : 193-6.
13. Jordan B. Les débuts de CRISPR en thérapie génique. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 1035-7.

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

TIRÉS À PART

B. Jordan



18^{èmes} Journées de la Société Française de Myologie



filères de santé
maladies rares

